Beiträge

zur

Kenntnis der Gallensäuren.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

hohen naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt

von

Gotthard Bulnheim

Apotheker aus Bautzen (Königreich Sachsen).

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

Tübingen 1897.

Buchdruckerei von G. Schnürlen.

Von der Fakultät angenommen am 4. August 1897.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. VON HÜFNER, auf dessen Veranlassung und unter dessen Leitung nachstehende Arbeit im physiologisch-chemischen Institut zu Tübingen entstand, für das mir entgegengebrachte Interesse und Wohlwollen meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552309_0098

I. Teil.

Einleitung.

Vorliegender Arbeit lag ursprünglich der Plan zu Grunde die von TAPPEINER [1]) Anfangs der siebziger Jahre im Fittig'schen Laboratorium zu Tübingen begonnenen und später in München fortgesetzten Cholsäure [2])-Oxydations-Versuche nachzuprüfen, dabei aber besonders eine bequeme und glatte Darstellungsmethode der sogenannten Cholesterinsäure ausfindig zu machen. — Bisher war es nur TAPPEINER gelungen, diese letztere krystallisiert zu erhalten, während alle übrigen Forscher vor und nach ihm nur die REDTENBACHER'sche Cohlesterinsäure [3]), eine gelbliche, syrupartig amorphe Säure — nach TAPPEINER ein Gemisch von Cholesterinsäure $C_{12}H_{16}O_7$ und Brenzcholesterinsäure $C_{11}H_{16}O_5$ — erhalten konnten.

REDTENBACHER erhielt seine Säure durch Einwirkung von heisser, concentrierter Salpetersäure auf ein unkrystallinisches Gemisch von Gallensäuren der Rindergalle, das man damals nach DEMARCAY [4]) Choloidinsäure nannte, und das aus teilweise anhydrischer Cholsäure, $C_{24}H_{40}O_5$, und wohl auch ebensolcher Choleïnsäure [5]), $C_{24}H_{40}O_4$, bestand.

---

1) Ann. 194, 211.

2) Nach dem Vorbilde TAPPEINER's u. a. bezeichne ich Cholalsäure mit dem Namen Cholsäure.

3) Annal. 57, 162.

4) Annal. 27, 270.

5) Berichte 18; 3039 und 19; 1140 (LATSCHINOFF).

Nebenher entstanden bei der Oxydation u. a. niedere Fettsäuren, dann Nitrocholsäure und Cholacrol, zwei bisher wenig studierte Verbindungen, und Choloidansäure $C_{16}H_{24}O_7$.

Redtenbacher beschreibt seine Cholesterinsäure, die er auf gleiche Weise auch aus Cholesterin erhalten hatte, als eine gelbliche, harzartig-amorphe Masse, welche in Wasser leicht löslich, daraus aber nicht krystallinisch zu erhalten ist und auch nicht in krystallinische Salze übergeführt werden konnte. — Die Zusammensetzung dieser Säure ermittelte er mit Hilfe des Silbersalzes und stellte darnach die alte Formel: $C_8H_5O_5$ auf, welche nach der jetzigen Schreibweise $C_8H_{10}O_5$ lauten und die Annahme gestattet würde, dass die Säure zwei Carboxyle enthält. —

Dieselbe amorphe Säure, bez. dieselben Befunde bei der Analyse des Silbersalzes erhielten nach ihm Schlieper [1]) und Gundelach und Strecker [2]), die letzteren aus Hyocholinsäure, [einer in der Galle von Schweinen vorkommenden Säure], welcher sie die Formel: $C_{27}H_{43}NO_5$ [$=C_{25}H_{39}O_3.NHCH_2COOH$] gaben, und die deshalb wohl besser Glycohyocholsäure genannt werden könnte. —

Von späteren Forschern glaubt Clève [3]) gelegentlich auf Cholosterinsäure gestossen zu sein, doch sind seine Mitteilungen hierüber nur dürftig.

Clève erhielt bei der Oxydation von Cholsäure mittelst K Mn O_4 in verdünnter Lösung bei gewöhnlicher Temperatur und wochenlanger Einwirkung neben Biliansäure, von der

---

1) Annal. 58. 377.

2) Annal. 62. 205.

3) Alle Abkömmlinge und Homologe der Glycocholsäure bezeichnet man, sofern sie noch die Glycocollgruppe tragen, am kürzesten als „Glyco"-Säuren.

4) Ber. 15, 2365; auch Bull. soc. chim. 38, 131.

weiter unten die Rede sein wird, eine sehr leicht in Wasser lösliche, amorphe Säure mit allen Eigenschaften der REDTENBACHER'schen Cholesterinsäure. Nach der Analyse eines Silbersalzes, die er indessen nicht für beweisend ansieht, musste die Säure die Zusammensetzung: $C_{23}H_{30}O_{12}$ besitzen. Das Silbersalz war nach der Formel: $C_{23}H_{27}Ag_3O_{12}$ zusammengesetzt. — Auch Biliansäure soll nach CLÈVE durch Salpetersäure zu Cholsterinsäure oxydiert werden.

LATSCHINOFF [1]) und DESTREM [2]) haben sich einige Jahre vor CLÈVE ungefähr gleichzeitig mit dem Studium der Einwirkung von $KMnO_4$ auf Cholsäure beschäftigt.

DESTREM hatte in der Kälte oxydiert und dabei neben Oxalsäure und Spuren Buttersäure eine in Wasser und Alkohol leicht lösliche, wenig in Äther lösliche Säure erhalten, die nach dem Trocknen im Vacuum glasig amorph blieb. Ihre Zusammensetzung entsprach der Formel $C_{24}H_{36}O_{15}$. Es verdient hier bemerkt zu werden, dass diese Formel: $C_{24}H_{36}O_{15}—H_2O$, durch zwei dividiert, $C_{12}H_{17}O_7$ giebt, einen Ausdruck, welcher TAPPEINER'S Formel der Cholesterinsäure sehr nahe kommt.

LATSCHINOFF [3]) bezweifelte nach der Publikation der DESTREM'schen Resultate, dass bei der Einwirkung von $KMnO_4$ die Cholsäuremolekel intakt bliebe. Um seine Priorität zu wahren, gab er einen kurzen Überblick über seine Arbeiten.

Nach seinen Untersuchungen seien Kohlensäure, Essigsäure und Oxalsäure die Hauptprodukte, von Buttersäure habe er nur den Geruch wahrnehmen können. Daneben aber entstünden Säuren, deren Zusammensetzung aus lückenhaften Thatsachen geschlossen und durch folgende Formeln ausgedrückt werden kann: $C_{10}H_{14}O_3$; $—C_{10}H_{14}O_5$; $—C_{10}H_{14}O_6$; $(C_{10}H_{14}O_3)_2 + H_2O$; $—(C_{10}H_{14}O_5)_2 + H_2O$; $(C_{10}H_{14}O_6)_2 + H_2O$.

1) Ber. 12. 852.

2) Compt. rend. 87. 880 (Ber. 12. 1879).

3) Ber. 12. 1879.

Später ist LATSCHINOFF nicht mehr auf diese Arbeiten zurückgekommen.

TAPPEINER wählte als Oxydationsmittel das in damaliger Zeit zur Geltung kommende FITTIG'sche Chromsäuregemisch [$K_2Cr_2O_7 + 4H_2SO_4 + xH_2O$] das vor ihm nur FRÖHDE [1]) schon auf Gallensäuren hatte einwirken lassen. Während dieser angiebt, nur Fettsäuren erhalten zu haben, erhielt TAPPEINER nebeneinander, — bei verschiedener Verdünnung und Einwirkungsdauer in wechselnden Verhältnissen: — Cholesterinsäure, eventuell auf Brenzcholesterinsäure, fette Säuren von Stearinsäure an abwärts und Cholansäure $C_{20}H_{28}O_6$. Ausserdem traten Kohlensäure und Essigsäure auf. — In einer späteren Mitteilung [2]) weist er besonders auf die Zeitdauer und Reaktionstemperatur hin und findet hierin den Grund für die mannigfache Reaktion der Cholsäure.

TAPPEINER giebt an, mit vollkommen reiner Cholsäure, die er mehrfach analysiert habe, gearbeitet zu haben. —

LATSCHINOFF [3]) der ebenfalls auf TAPPEINER'S Arbeit zurückging und bei der Oxydation der Cholsäure mit $KMnO_4$ in alkalischer Lösung keine Fettsäuren gefunden hatte, suchte später in Gemeinschaft mit KUTSCHEROFF [4]) nach TAPPEINER'S Methode vergeblich nach fetten Säuren. Besonders KUTSCHEROFF suchte durch Parallel-Versuche mit Cholsäure einerseits und mit Gemischen von Cholsäure und Stearinsäure andererseits diese Frage zu entscheiden. Seine Versuche wurden teilweise — was man beanstanden könnte — mit nicht ganz fettsäurefreier, sowie choleinsäurehaltiger Cholsäure angestellt, lieferten aber keine erheblichen Mengen Fettsäuren. — TAPPEINER [5])

---

1) Zeitschr. f. Chemie 7. 464. (1864).
2) Ber. 12; 1627.
3) B. 10; 2059. 12; 1022. 13; 1911 und 1518.
4) B. 12; 2325. 14; 1492.
5) Ber. 12; 1627.

wollte indessen aus einem gr Cholsäure eine zur Ausführung einer Analyse genügende Menge Fettsäure erhalten haben; leider hat er seine diesbezügliche Methode nicht genau genug angegeben.

Diese eine Streitfrage war also bisher noch unerledigt.

Ich selbst habe nun, wie ich schon hier bemerken möchte, bei Oxydation von Biliansäure, einem Produkte der Oxydation der Cholsäure, mit $KMnO_4$ in schwefelsaurer Lösung, also mit einem dem Chromsäuregemisch analogen, aber noch schneller wirkendem Mittel, höhere fette Säuren aufgefunden, während dieselben in alkalischer Lösung nicht auftraten.

Ähnlich wirkt dichromsaures Natrium in eisessigsaurer Lösung. — Dadurch dürften Tappeiner's Angaben glaubwürdiger erscheinen.

Eine weitere noch zu bestätigende Frage war das Auftreten von Cholansäure unter den Oxydationsprodukten der Cholsäure.

Latschinoff [1]) hatte 1885 neben der Cholsäure in jedenfalls gefaulter Ochsengalle eine andere Säure entdeckt, der er den Namen Choleinsäure (früher als Bezeichnung für Taurocholsäure gebräuchlich) gab. Sie enthält ein Sauerstoffatom weniger als Cholsäure und ist mit Mylius' Desoxycholsäure [2]) vielleicht identisch. — Latschinoff gab an, dass nur diese Säure Cholansäure liefere; demnach müsste Tappeiner's Ausgangsmaterial choleinsäurehaltig gewesen sein. —

Dehydrocholsäure und Biliansäure sind die beiden ersten, bisher bekannten Oxydationsstufen der Cholsäure und entstehen daraus durch gelinde Oxydation. Nach Mylius [3]) eingehenden Untersuchungen haben diese drei Säuren folgende Formeln:

---

1) Ber. 18. 3039 und 19. 1140.
2) Ber. 19; 369 ff. 20; 1970. 20; 1043.
3) Ber. 19; 369, 2000. 20; 1969.

$(C_{20}H_{31})\begin{cases}COOH\\CH_2OH\\CH_2OH\\CHOH\end{cases}$ $(C_{20}H_{31})\begin{cases}COOH\\CH.O\\CH.O\\CO.\end{cases}$; $(C_{19}H_{31})\begin{cases}(COOH)_3\\—CO\\—CO.\end{cases}$

Cholsäure. — Dehydrocholsäure. — Biliansäure.

Vergleicht man hiermit die von CLÈVE[1]) für die TAPPEINER'sche Cholansäure aufgestellte Formel: $C_{24}H_{34}O_7$, so kann man geneigt sein, in ihr die noch nicht dargestellte, von der Cholsäure sich ableitende Säure

$(C_{20}H_{31})\begin{cases}(COOH)_3\\CHOH\end{cases}$ oder $(C_{20}H_{31})\begin{cases}(COOH)_3\\CO\end{cases}$

zu vermuten. — Sie stände dann also in der Mitte zwischen Cholsäure, bez. Dehydrocholsäure und Biliansäure und müsste durch weitere Oxydation in Biliansäure übergehen. Dies ist nicht der Fall. Sie erweist sich zwar als Ketonsäure, aber als eine, die mit der Biliansäure höchst wahrscheinlich die zweite Ketongruppe gemein hat.

Darin liegt eine weitere Begründung für LATSCHINOFF'S Angaben.

Wie bereits bemerkt, bildet Cholsäure als erstes Oxydationsprodukt Dehydrocholsäure, deren Ketoncharakter später von MYLIUS festgestellt wurde. HAMMARSTEN[2]) ist der Entdecker dieser Säure und schrieb ihr auf Grund seiner zahlreichen Analysen die Fomel: $C_{25}H_{36}O_5$ zu. LASSAR-COHN[3]) hat später gefunden, dass Dehydrocholsäure bei öfterem Umkrystallisieren aus Alkohol — vielleicht bei Gegenwart geringer Mengen Salzsäure — leicht in ihren Äthylester übergehen kann, welcher ebensoleicht wie die Säure selbst krystallisiert, und dessen Vorhandensein in HAMMARSTEN'S Säure die

1) Compt. rend. 41. (1880) und Aldehyd.
2) Ber. 14. (1881) S. 71.
3) Z. f. phys. Ch. 16. 488.

analytischen Befunde zu Gunsten der Formel: C_{25} . . . . . beeinflusste.

Früher nahm ein grosser Teil der Chemiker, namentlich im Auslande, für die Cholsäure 25 Kohlenstoffatome in der Molekel an. Von den neueren Forschern konnte LATSCHINOFF auf Grund seiner Analysen sich der neueren STRECKER'schen [1]) Formel, die namentlich von MYLIUS [2]) verteidigt wurde, nicht anpassen. — Jetzt dürfte wohl dieser Streit erledigt sein, und es ist, glaube ich, unnötig, auf LATSCHINOFF's Zahlen, die er jedenfalls mit zu stark getrockneten Präparaten erhielt, näher einzugehen.

HAMMARSTEN hat seine Dehydrocholsäure durch Einwirkung von Chromsäure in eisessigsaurer Lösung bei 50—60° erhalten; über diese Temperatur hinaus erhitzt, entwickelt die Flüssigkeit Kohlensäure, und man erhält ein schwer zu zerlegendes Säuregemisch.

Die zweite, bereits genannte Oxydationsstufe, die Biliansäure, wurde von CLÈVE [3]) aus dem Natronsalz der Cholsäure durch Einwirkung einer kalten, verdünnten $KMnO_4$-Lösung in harzig amorphem Zustande, später bei recht verlangsamter, wochenlang dauernder Oxydation mit grösseren $KMnO_4$-Mengen, in krystallisierbarem Zustande, neben Cholesterinsäure (s. o.) und Oxalsäure erhalten. — Ausserdem aber gelang ihm die Darstellung krystallisierbarer Säure beim Oxydieren von Cholsäure mit Chromsäuremischung von geringer Konzentration. Seine damalige Formel ($C_{50}H_{70}O_{17} + 4H_2O$), nach welcher die Biliansäure als ein Anhydrid von 2 ($C_{25}H_{36}O_9$)—H_2O+$4H_2O$ erscheinen müsste — was sehr unwahrscheinlich erscheint — ist später von MYLIUS [4]) zu der früher [5]) genannten Formel $C_{24}H_{34}O_8$ verbessert worden.

1) Annal. 67. 1.
2) Ber. 20. 1969.
3) Bull. soc. chim. 35. 373 + 429; auch Compt. rend. 41. 1880.
4) Ber. 20. 1669 ff.
5) Seite 8.

Es ist bemerkenswert, dass TAPPEINER nicht auf Biliansäure gestossen ist. TAPPEINER spricht u. a. von Säuren [1]), die der Cholansäure entsprechen, bezw. bei weiterer Oxydation in diese übergehen. Auch glaubte er Säuren gefunden zu haben, welche die PETTENKOFER'sche Gallensäurereaktion noch geben. Es ist wohl anzunehmen, dass durch noch vorhandene Cholsäure diese Reaktion entstanden ist. Keine der inzwischen bekannt gewordenen Säuren, Dehydrocholsäure, Biliansäure, sowie Choleinsäure ($C_{24}H_{40}O_4$) und deren Abkömmling Dehydrocholeinsäure [2]) ($C_{24}H_{36}O_4$) geben diese Reaktion.

TAPPEINER's Mitarbeiter EGGER [3]) hat später versucht, bezüglich der fraglichen Zwischenprodukte zu greifbaren Resultaten zu gelangen. Er verwandte auf 30 gr Cholsäure 60 gr Kaliumdichromat, 32,5 ccm konzentrierter Schwefelsäure, mit dem achtfachen Volumen Wasser verdünnt, und musste, um eine Einwirkung zu erzielen, erwärmen. Dabei traten Kohlensäure, vielleicht auch niedere Fettsäuren auf, während die Cholsäure sich breiartig verflüssigte, um später wieder körnig zu werden.

EGGER filtrierte jetzt die noch unverändertes Kaliumdichromat enthaltende Flüssigkeit heiss ab und gewann aus dem erkalteten Filtrate eine Säure in Gestalt zarter Häutchen, die er auch durch Auskochen des körnigen Filterrückstandes mit Wasser erhalten konnte. Er nannte sie Bilinsäure. Sie krystallisiert aus Wasser, wie aus Alkohol in Gestalt kleiner, häufig zu Drusen gruppierter Nadeln.

EGGER giebt an, die Säure sei zweibasisch, gebe aber keine krystallisierenden Salze. Das Kalium- und Bariumsalz sei in Wasser löslich, das Bleisalz und Silbersalz seien darin unlöslich. Das neutrale Kaliumsalz sei in Alkohol löslich, das saure da-

1) Annal. 194, 213, 229.
2) Ber 20. 1043 ff.
3) Ber. 12. 1068.

gegen unlöslich, würde aber durch Zugabe von alkoholischer Kalilauge wieder gelöst. — Diese letztere Eigenschaft besitzt nun aber auch die Biliansäure und MYLIUS[1]) hat darauf eine Reinigungsmethode gegründet, um Biliansäure von Dehydrocholsäure zu befreien.

EGGER führt zwar für die Acidität seiner Säure die Analyse des sauren Kaliumsalzes an; es scheint mir aber dies wenig beweisend zu sein. Denn die Analyse eines Gemisches von einfach und zweifach saurem Kaliumsalz einer dreibasischen Säure würde leicht zu den gleichen Zahlen führen. —

Wie TAPPEINER hinsichtlich seiner Cholansäure als eines Abbauproduktes der Cholsäure, so scheint sich EGGER mit seiner Bilinsäure getäuscht zu haben. Das Auftreten von etwas Kohlensäure ist durch Nebenreaktionen zu erklären und auch bei Darstellung der Biliansäure kaum zu vermeiden. — EGGER sagt gegen Schluss seiner Arbeit selbst: „Die angestellten Versuche liessen flüchtige Säuren“ — also vielleicht $C_8H_{16}O_2$ — „nicht wahrnehmen.“ — Auch Oxalsäure, giebt EGGER an, sei nicht aufzufinden gewesen, was begreiflich ist, wenn man erfährt, dass Oxalsäure durch Chromsäure selber zerstört wird.

Durch Einwirkung von Chromsäuremischung, sowie von konzentrierter Salpetersäure erhielt EGGER aus seiner Säure „das Gemenge Cholesterinsäure und Brenzcholesterinsäure.“ [TAPPEINER's.] — Ich beobachtete, dass Biliansäure auch von Chromsäuregemisch angegriffen wird, aber nur beim Kochen mit einer sehr konzentrierten Lösung. — Die Einwirkung von Salpetersäure auf Biliansäure hat CLÈVE studiert; auch hierbei bildet sich nach seinen Mitteilungen Cholesterinsäure. — Auch diese zwei Beobachtungen sprechen für die Identität von CLÈVE's Biliansäure mit EGGER's Bilinsäure.

Eine Krystallwasserbestimmung scheint EGGER nicht aus-

---

1) Ber. 20. 1969.

geführt zu haben, oder vielleicht nur bei 100—110°, wo die Biliansäure sich fast gar nicht verändert. —

Bei raschem Erhitzen bis zu 190° schmilzt Egger's Säure, während bei langsamer Steigerung sie sich bei 140° bräunt und zusammenballt, ohne jedoch unter 210° zu schmelzen.

Die Bräunung bei 140° ist wohl durch Verunreinigung mit Spuren Schwefelsäure zu erklären; reine Biliansäure verfärbt sich erst zwischen 240 und 250° und schmilzt bei 264°.

Egger vermutete, dass bei 140° Umsetzung in ein schwer schmelzbares Produkt erfolge. Ich habe mit wasserhaltiger Biliansäure ($C_{24}H_{34}O_8 + 2H_2O$) seine Schmelzpunktbestimmungsversuche wiederholt und gefunden, dass reine krystallwasserhaltige Biliansäure, langsam erhitzt, ebenso wie entwässerte, sich erst bei 264° verflüssigt, während andere Proben, schnell ins Schwefelsäurebad von 190°, 200° und 240° gebracht, unverändert blieben. Die letztere Probe zeigte indes einen Schmelzpunkt von 262°.

Was nun Egger's Analysen betrifft, so geben sie Werte, die zwischen anhydrischer und hydratischer Biliansäure in der Mitte stehen.

Biliansäure:		dieselbe + $2H_2O$:	
C_{24}:	64 %	C_{24}:	59,25 %
H_{34}:	7,55 %	H_{38}:	7,87 %
O_8:	—	O_{10}:	—
Bilinsäure:		gefunden (Egger):	
C_{16}:	61,93 %	61,6 — 61,2 — 61,8	
H_{22}:	7,09 %	7,8 — 7,4 — 7,7	
O_6:	—	— — —	

Clève scheint nur die mit Hydratwasser krystallisierte Biliansäure erhalten zu haben, Latschikoff [1]) erhielt Krystalle

1) Ber. 19. 1523 ff.

ohne Krystallwassergehalt; MYLIUS hat diesen Gegenstand nicht berücksichtigt. Ich habe beobachtet, dass sich Biliansäure aus heissen wässerigen Lösungen, ebenso aus mässig konzentriertem Alkohol anhydrisch in Nadeln oder Blättchen oder zerschlitzten Gebilden abscheidet, dass dieselben aber beim Stehen unter Wasser in die charakteristischen derben abgestumpften Prismen der hydratischen Biliansäure übergehen. — Krystalle mit Krystallalkohol erhielt ich nicht.

Demnach ist anzunehmen, dass EGGER ein Gemisch beider Krystalle oder nur die anhydrische Form erhielt, die sich während des Auswaschens teilweise in die hydratische Form umwandelte. Am besten aber erscheint EGGER's Bilinsäureformel durch die Analyse des sauren Kaliumsalzes (s. o.) begründet zu sein. EGGER berechnet für saures Kaliumbilinat 11,2 % Kalium und fand 11,2 und 11,8 %. — Neutrales biliansaures Kalium — das zunächst nicht in Betracht käme — enthält: 20,87 % K; einfachsaures Salz: 14,89 % K; zweifachsaures Salz: 8,02 %. — Ein äquimolekulares Gemenge der beiden letzteren aber enthält 11,45 % K, was EGGER's Zahlen sehr nahe kommt. —

In der That erhält man, wenn man eine Lösung von Biliansäure in 96prozentigem Alkohol mit alkoholischer Kalilauge von demselben Alkoholgehalt versetzt, je nach dem Zusatz von letzterer, Niederschläge von wechselndem Kaliumgehalt, die gern weiter zugefügtes Kali verschlucken, aber erst bei Zusatz eines grossen Überschusses in Lösung gehen. —

Ich habe, um ganz sicher zu gehen, EGGER's Versuch mit einer kleinen Menge reiner, bei 130° getrockneter Cholsäure wiederholt und habe, wie vorauszusehen, Biliansäure erhalten, die an ihrer eigentümlichen Krystallisationsart und am Schmelzpunkt erkannt wurde. — Daneben untersuchte ich auch den unlöslichen chromhaltigen Rückstand, dem EGGER keine Beachtung geschenkt hatte, und fand neben Biliansäure noch De-

hydrocholsäure, die an ihrer Schwerlöslichkeit im Wasser, leichten Krystallisierbarkeit und am Schmelzpunkte erkannt wurde. Ausserdem wurde die Abwesenheit von Cholsäure durch den negativen Ausfall der PETTENKOFER'schen Probe konstatiert.

Auch CLÈVE [1]) hat bei der Wiederholung von EGGER's Versuchen Biliansäure erhalten; jedoch spricht er sich nicht über die Möglichkeit der Identität beider Säuren aus. Für mich steht dieselbe aus den angeführten Gründen und Thatsachen ausser Zweifel. Inzwischen dürfte der jüngere Name Biliansäure an Stelle des älteren: Bilinsäure aus Zweckmässigkeitsgründen beizubehalten sein. —

Neben der Biliansäure ist es LATSCHINOFF [2]) und später auch MYLIUS [3]) gelungen, eine mit ihr vielleicht isomere oder homologe Säure aufzufinden, die sich, wie es scheint, neben Biliansäure bei der Oxydation reiner Cholsäure bildet, und deren Kohlenstoffgehalt nur wenig niedriger als der der Biliansäure aufgefunden wurde. — LATSCHINOFF nannte sie Isobiliansäure. Sie ist noch sehr wenig bekannt. —

Desgleichen hat LATSCHINOFF [4]) neben der Cholansäure eine Isocholansäure unter den Oxydationsprodukten aus der Choleinsäure aufgefunden, deren Kohlenstoffgehalt ebenfalls dem der Cholansäure ziemlich nahe kommen soll, über deren Charakter aber ebensowenig Sicheres bekannt ist. —

Die erste Säure nun, die seinerzeit schon als Abbauprodukt der Cholsäure erschien, ist die REDTENBACHER'sche Cholodiansäure (s. o.), die vor ihm schon THEYER und SCHLOSSER [5]) beim Oxydieren von gereinigter Rindergalle mit Salpetersäure erhalten hatten. TAPPEINER erhielt sie ebenfalls, als er seine Cholansäure mit Salpetersäure behandelte.

1) Bull. soc. chim. 35, 373 ff.
2) Ber. 19. 1529 ff.
3) Ber. 20; 1969.
4) Ber. 15, 713; 19; 1529.
5) Annal. 50. 235.

Latschinoff glaubte zuerst für die Choloidansäure [1]) die Formel: $C_{10}H_{16}O_4$ annehmen zu können, hielt sie deshalb für ein Isomeres der Camphorsäure und nannte sie Cholecamphorsäure. Unter Annahme der von Tappeiner für Cholansäure aufgestellten Formel: $C_{20}H_{28}O_6$ glaubte er, dass sie aus dieser durch Hydrolyse entstände:

$$C_{20}H_{28}O_6 + 2H_2O = 2C_{10}H_{16}O_4.$$

Nachdem aber Clève [2]) für die Cholansäure die Formel: $C_{24}H_{34}O_7$ als die wahrscheinlichere hingestellt hatte, erkannte Latschinoff seinen Irrtum, [3]) brachte aber für seine Choloidansäure (in Analogie mit seinen anderen Formeln C_{25} . . . .) die Formel $C_{25}H_{40}O_{10}$ in Vorschlag.

Einer Pseudocholoidansäure, [4]) auf die er durch Clève's Untersuchungen aufmerksam gemacht worden war, gab er die Formel $C_{25}H_{38}O_9$ [d. h. $C_{25}H_{40}O_{10} - H_2O$] und bezeichnete die erstere als fünfbasisch, die zweite als wahrscheinlich vierbasisch.

Clève [5]) selbst hatte Redtenbacher's Versuche wiederholt und aus einem Kilo Cholsäure neben Cholesterinsäure einige Hundertstel (centièmes [6]) Cholansäure und Choloidansäure und bei weiterer Oxydation aus Cholansäure „Pseudocholoidansäure“ erhalten. Die letztere hat dieselbe Formel wie Redtenbacher's Choloidansäure $C_{16}H_{24}O_7$. Der ersteren aber gab er die Formel: $C_{17}H_{25}O_7$. — Diese willkürliche Namensänderung ist bereits von Latschinoff gerügt worden.

Es erübrigt nur noch, darauf hinzuweisen, dass eine Säure $C_{17}H_{25}O_7$ gar nicht existieren kann, höchstens eine Säure $C_{17}H_{26}O_7$ oder $C_{17}H_{24}O_7$.

---

1) Ber. 12; 1518. 13; 1880.
2) Bull. soc. chim. 35; 474.
3) Ber. 19; 1521.
4) Ber. 19; 1521.
5) Bull. soc. chim. 38; 131.
6) Latschinoff übersetzt Centigramme.

Nach Clève sollen beide Säuren sich sehr ähneln; Latschinoff lässt die Frage noch offen, ob die Acidität beider Säuren die gleiche ist.

Vor allem aber interessiert es uns zu wissen, ob in der Choloidansäure der unzerrissene Cholsäurekomplex vorliegt oder nicht.

Hervorzuheben wäre noch, dass Choloidansäure und Pseudocholoidansäure nicht mehr als Oxydationsprodukte der Cholsäure, sondern als solche der um ein Sauerstoffatom ärmeren Choleinsäure ($C_{24}H_{40}O_4$) erscheinen.

In neuerer Zeit hat sich Vahlen [1]) mit der Frage beschäftigt, ob die aus Cholsäure beim Faulenlassen mit Pancreas entstehende Desoxycholsäure von Mylius thatsächlich mit Latschinoff's Choleinsäure identisch sei. Wäre dies der Fall, so müsste sie als Oxydationsprodukt Cholansäure geben. —

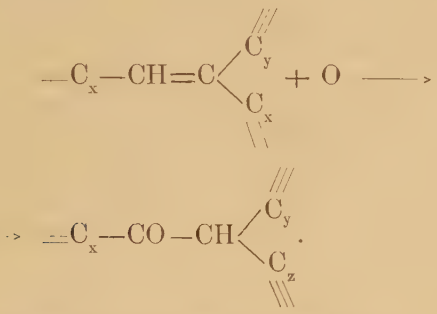
Bei zu lange andauernder Fäulnis erhielt er an Stelle der in Wasser schwer löslichen Säure auf Zusatz von Salzsäure zu der filtrierten Lösung des Reduktionsproduktes überhaupt keine Fällung. Er hat dann durch gelinde Reduktion mit Zinkstaub in essigsaurer oder alkalischer Lösung eine Desoxycholsäure erhalten, die mit der von Mylius jedenfalls identisch ist. Auch bei dieser Methode führte stärkere Reduktion zu in Wasser löslichen Säuren. — Auch ich bekam, als ich Cholsäure mit Pancreas behufs Gewinnung von Choleinsäure, bez. Cholansäure faulen liess, keine in Wasser unlöslichen Säuren.

Der Schluss ist wohl nicht ganz ungerechtfertigt, dass neben Choleinsäure oder eigentlicher Desoxycholsäure $C_{24}H_{40}O_4$ noch eine ihr sehr ähnliche dihydrierte Säure existiert: $C_{24}H_{42}O_4$. — Wie bereits oben erläutert, entstehen Biliansäure und Cholansäure unter Eintritt eines Sauerstoff-Atomes o h n e gleichzeitige Substitution von Wasserstoff, bez. Eliminierung desselben.

---

1) Vahlen, Zeitschr. f. phys. Chem. 34. 210.

Zur Erklärung dieses Vorganges müssen wir zur Annahme einer doppelten Bindung und zur Sprengung derselben unter gleichzeitiger Wasserstoffwanderung unsere Zuflucht nehmen, z. B. nach folgender Formel:



Es liegt dann allerdings sehr nahe, auf die Existenz einer dihydrierten Desoxycholsäure zu schliessen. Auf die weiteren Resultate von Vahlen kann man demnach sehr gespannt sein.

Die Cholsäure enthält, wie die Formel

$$[C_{24}H_{40}O_5] = \left[C_{20}H_{31} \cdot \begin{matrix} COOH \\ (CH_2OH)_2 \\ CHOH \end{matrix}\right]$$

zeigt, acht Atome Wasserstoff weniger als die entsprechende gesättigte Säure mit offener Kohlenstoffkette. Mylius[1]) glaubte dennoch den aromatischen Charakter der Cholsäure verneinen zu können. Mir scheint für ihren aromatischen Charakter die Paarung mit Taurin und besonders Glycocoll zu Taurocholbez. Glycocholsäure im Organismus zu sprechen. In gleicher Weise werden ja Benzoesäure und andere aromatische Säuren (denn zur Wegschaffung anderer aromatischer Verbindungen dient Glycuronsäure) behufs Ausscheidung aus dem Organismus zu Hippursäure u. s. w. umgebildet. — Aus diesem Grunde könnte dann auch ein Abbauversuch nach Hoffmann mit Hilfe des Amides, wie er früher im hiesigen Laboratorium

1) Ber. 20; 1969 ff.

versucht worden ist — von der vielleicht zu grossen Molekel ganz abgesehen — nicht zum Ziele führen, weil eben die Carboxylgruppe direkt am Kern sitzt. —

Senkowsky's Phtalsäurefund.

In neuerer Zeit hat SENKOWSKY [1]) die Suche nach dem aromatischen Kern wieder aufgenommen; er giebt an, schliesslich Phtalsäureanhydrid untrüglich nachgewiesen zu haben. —

Nachdem ich zu Beginn meiner Arbeit seinen Versuch erfolglos wiederholt hatte, habe ich später denselben nochmals angestellt und bin dann allerdings zu einem, aber in anderer Hinsicht interessanten Resultat gekommen. —

SENKOWSKY löste 25 gr Cholsäurealkoholat, d. h. Cholsäure, welche aus absolutem Alkohol in charakteristischen Tetraedern mit einer Molekel Krystallalkohol krystallisiert, in der genügenden Menge Kalilauge, vertrieb durch Erwärmen den Alkohol und setzte eine konzentrierte $KMnO_4$-Lösung solange bei Wasserbadwärme zu, bis eine Probe der Flüssigkeit, filtriert, nach dem Ansäuern mit Salzsäure keine in Wasser unlöslichen Säuren mehr abschied. Hierzu verbrauchte er ungefähr 180 gr.

Ein Molekulargewicht Cholsäurealkoholat wurde demnach mit 3269 Einheiten $KMnO_4$ oxydiert, da eine Molekel $KMnO_4$ (316) in alkalischer Lösung stets drei Atome Sauerstoff liefert, so wendete SENKOWSKY also ungefähr 31 Atome Sauerstoff auf eine Molekel zur Oxydation an. —

Die Reaktionsflüssigkeit wird nach beendeter Oxydation filtriert, konzentriert, mit Salzsäure im Überschuss versetzt, mit Wasserdampf destilliert, wobei nach SENKOWSKY Essigsäure, vielleicht auch Propionsäure, aber keine Benzoesäure übergehen, und nachher mit Äther ausgeschüttelt und der Äther abdestilliert . . . . . „Es blieb eine syrupartige, saure, in Wasser

1) Wiener Monatshefte 1896. Bd. 17. 1.

leicht lösliche Masse, aus der sich nach einigen Stunden lange Krystallnädelchen ausschlossen. Die Krystalle wurden abgesaugt, mit kleinen Mengen Äther, worin sie ziemlich schwer löslich waren, gewaschen und aus heissem Wasser umkrystallisiert. Sie schmolzen bei 105°. In der Voraussetzung, dass es sich doch um Benzoesäure handelt, wurden dieselben der Sublimation unterworfen. Die Substanz sublimierte unter Wasserausscheidung und der Schmelzpunkt erhob sich auf 180°, war aber nicht konstant. Nach mehrmaligem Sublimieren, wobei sich immer Wassertröpfchen zeigten, wurden lange Krystallnadeln erhalten, die konstant bei 128° schmolzen. Der Schmelzpunkt zeigte, dass es sich um Phtalsäureanhydrid handelt, was die ausgeführte Fluoresceinreaktion bestätigt hat, die nach dem Schmelzen der Krystalle mit Resorcin und nachherigem Lösen in verdünntem Ammoniak hervortrat. — Die Elementaranalyse ergab:

Bestimmt:	berechnet für $C_8H_4O_3$
C 64,42 %	C: 64,86 %
H 3,05 %	H: 2,74 % —“

Soweit Herr Senkowsky.

Ich führte mit 5 gr Cholsäurealkoholat und 36 gr $KMnO_4$ die Oxydation aus, benutzte indessen zur Dampfdestillation nur die grössere Hälfte des konzentrierten Filtrates und stellte die andere vorläufig beiseite. Der Destillationsrückstand wurde 15 Mal mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung mit Chlorcalcium getrocknet und destilliert. — Es hinterblieb, wie bei einem früheren Versuche, eine gelbliche, in Wasser leicht lösliche Masse, die selbst nach tagelangem Stehen keine Krystall-Abscheidungen gab. — Ganz gleich verhielt sich die nicht mit Wasserdampf behandelte Flüssigkeit beim Ausäthern.

Als jedoch das Chlorcalcium, das zum Trocknen der Ätherauszüge verwendet worden war, untersucht wurde, zeigte es sich

z. T. unlöslich in Wasser. Nachdem durch Salzsäurezusatz eine klare Lösung erzielt worden war, gab zugefügtes essigsaures Natrium einen Niederschlag. Derselbe wurde durch Dekantieren mehrmals ausgewaschen, nochmals in Salzsäure gelöst und wieder mit essigsaurem Natrium gefällt. Der Schluss lag nahe, dass es sich um oxalsauren Kalk handle. — Nach dem Auswaschen und Trocknen bei 100° wurde deshalb der erhaltene Niederschlag im Platintiegel gelinde zur schwachen Rotglut erhitzt.

0,1379 gr Ca-Salz hinterliessen 0,0848 gr Rückstand, der sich als kohlensaurer Kalk erwies.

Oxalsaurer Kalk, von der Zusammensetzung ($CaC_2O_4+ZH_2O$) bei 100°, giebt 60,97% $CaCO_3$; gefunden wurde 61,4%. —

Es wurden nun nochmals die bereits ausgeätherten Flüssigkeiten, da Oxalsäure schwer in Äther übergeht, ausgeschüttelt, aber die erhaltenen Auszüge vor dem Abdestillieren des Äthers mit entwässertem Glaubersalz getrocknet. Der Destillationsrückstand schied alsbald Krystalle aus, die gesammelt und mit Äther gewaschen wurden.

Sie zeigten ganz das Verhalten der wasserhaltigen Oxalsäure; demnach hatte das entwässerte Glaubersalz ihr das Krystallwasser nicht entzogen. Die Krystalle schmolzen bei 101°, nach dem Erwärmen auf dem Wasserbade, also in nahezu anhydrischem Zustande, bei 184°. Der Schmelzpunkt der wasserfreien Oxalsäure (189°) wurde nicht ganz erreicht. — Bei ungefähr 120°—130° verflüchtigte sich die Säure. —

In Ammoniak gelöst, gab ein Krystall mit Chlorcalcium sofort einen deutlichen, in Essigsäure unlöslichen, aber in Salzsäure löslichen Niederschlag.

Nach diesen Resultaten kann sicher angenommen werden, dass SENKOWSKY nichts anderes als Oxalsäure erhalten hat. Es war mir dabei interessant, festzustellen — was jedenfalls nicht allgemein bekannt sein dürfte — dass eine wasserhaltige

ätherische Oxalsäurelösung sich mit Chlorcalcium in oxalsauren Kalk und Salzsäure umsetzt, die vom Äther aufgenommen wird.

Das überraschendste Resultat erhielt ich aber, als ich eine Probe wasserfreier Oxalsäure mit Resorcin vorsichtig zusammenschmolz. Es entsteht dann allerdings eine orangefarbene Schmelze, welche in verdünntem Ammoniak gelöst, prächtig fluoreszierte. [1]) — Nun wurde mir SENKOWSKY's Irrtum erst recht begreiflich, auch was seine gut auf Phtalsäureanhydrid stimmende Analyse anbelangt. —

---

1) Das Auftreten eines fluoreszierenden Farbstoffes beim Zusammenschmelzen von Resorcin mit Oxalsäure legte die Frage nach der Natur des gebildeten Körpers nahe. — Durch vorläufige Versuche mit Pyrogallol, Phloroglucin u. a. bin ich zu der Vermutung gekommen, dass die Oxalsäure — die man auch wasserhaltig zu den Schmelzversuchen anwenden kann — ähnliche Verbindungen wie die Phtaleine liefert, wie dies auch bei der Bernsteinsäure, Maleinsäure und Citraconsäure der Fall ist.

Ob diese Vermutung richtig ist, oder ob Verbindungen aus der Klasse der Aurine vorliegen: dies zu entscheiden, lag augenblicklich ausserhalb des Rahmens meiner Arbeit und muss deshalb weiteren Untersuchungen überlassen werden.

II. Teil.

Experimentelles.

Glycocholsäure. $(C_{20}H_{31}) \cdot \begin{matrix} CO \,.\, NH \,.\, CH_2 \,.\, COOH. \\ CH_2OH \\ CH_2OH \\ CHOH \end{matrix}$

Zu den Oxydationsversuchen wurde hauptsächlich Glycocholsäure verwendet. Dieselbe wurde nach dem HÜFNER'schen Verfahren[1]) dargestellt, das bisher nur für Gallen der hiesigen Gegend und weniger anderer Provinzen verwendbar schien. — Auf 100 ccm setzt man ca. 10 ccm Äther, darauf 4 ccm konzentrierte Salzsäure zu und schüttelt heftig durcheinander. Sofortiges heftiges Schütteln, sowie Impfung mit bereits ausgeschiedener Säure erleichtern die Abscheidung. Die ganze Masse erstarrt dann zu einem Krystallbrei, über welchem sich ein Teil des angewandten Äthers, durch Gallenfarbstoff braun gefärbt, ansammelt. — Der Krystallbrei wird, möglichst gut mit Wasser angerührt, aufs Filter gebracht und schnell so lange mit kaltem Wasser ausgewaschen, bis das Filtrat fast farblos abläuft. Dann wird aus kochendem Wasser umkrystallisirte, wobei ein grosser Teil grünlich gefärbter zum Teil anhydrischer Säuren zurückbleibt. Den letzten Rest der Dyslysin-artigen Beimengungen, welcher die Glycocholsäure noch schwach grünlich färbt, beseitigt man durch geeignetes Auflösen in verdünntem Alkohol. —

---

1) Journal f. prakt. Chem. 1880; auch Ber. 12. 1207.

Die Ausbeute beträgt gewöhnlich 1,5% der angewendeten Galle; bei Anwendung von Schwefelsäure [auf 100 ccm. Galle 15 ccm verdünnte H_2SO_4 (1vol: 5 vol.)], welche weniger anhydrisierend und spaltend wirkt, als Salzsäure, wurde die Ausbeute nicht merklich höher. — Die Ausscheidung scheint man Sommers und Winters gleich stark erhalten zu können; Grünfütterung und Trockenfütterung scheinen also keinen Einfluss auf die Gallenbildung zu haben. Gefaulte Galle giebt ebenfalls eine Ausscheidung scheinbar unveränderter Glycocholsäure ($C_{23}H_{39}O_3$).CO.NH.CH_2COOH); doch ist dieselbe, wie ich mich im Laufe der Arbeit überzeugt habe, mit Glycocholeinsäure ($C_{23}H_{39}O_2$)CO. — NH.CH_2COOH), die später Cholein- und Cholansäure liefert, verunreinigt.

Wenn man Galle, die, wie oben angegeben, mit Äther und Salzsäure versetzt worden ist, erst nach einiger Zeit durch Umschütteln oder Impfung zur Ausscheidung von Glycocholsäurekrystallen bringen will, erhält man für gewöhnlich nur noch unbedeutende oder gar keine brauchbaren Ausscheidungen. Jedenfalls ist dann durch die Salzsäure die ebenfalls mit verhandene Taurocholsäure — die ziemlich leicht zersetzlich ist — in Cholsäure und Taurin gespalten worden, von denen das letztere die Eigenschaft hat, die Abscheidung von fetten u. a. Säuren durch Mineralsäuren zu verhindern. —

Indes geben manche Gallen, besonders jüngerer Tiere, die Ausscheidung überhaupt nicht oder nur spärlich. — In Sachsen, wo früher, soweit mir bekannt, das Hüfner'sche Verfahren stets negativ ausfiel, ist neuerdings von Herrn cand. med. H. Harms in Zwickau und von mir in Bautzen das Gegenteil konstatiert worden. — Herr Harms hatte die Güte mir mitzuteilen, dass von ca. 16 Gallen vier die Ausscheidung gaben; und zwar stammten diese vier Gallen von Bullen der dortigen Gegend. — Mir gaben von 15 Gallen aus dem Bautzener Schlachthause 9 mehr oder weniger gute krystalli-

nische Ausscheidungen. Von zehn anderen, die schon in Fäulnis übergegangen waren, gelang mir bei einer sofort, bei zwei anderen nach Impfung, bei den übrigen nach Sättigung mit Kochsalz die Ausscheidung. — Auch hier waren es besonders die Gallen männlicher Tiere, welche günstige Resultate lieferten.

Glycocholsäure löst sich — im Gegensatz zu anhydrischen grünlichen Gallensäuren — leicht in essigsauren Alkalien. Diese Eigenschaft kann auch zur Reinigung der rohen Säure benutzt werden. — Am reinsten erhält man die Säure durch Umkrystallisieren aus verdünnter Essigsäure.

Cholsäure. $(C_{20}H_{31})\,.\,\begin{matrix}COOH\\(CH_2OH)_2\\CHOH.\end{matrix}$

Sie wurde aus der vorigen nach HARTMANN [1]) dargestellt. — 50 gr Glycocholsäure werden mit 200 gr Ätzbaryt und 6 Liter Wasser 16 Stunden lang gekocht. — Nachdem man filtriert hat, verdünnt man zweckmässig die Flüssigkeit; es ist dann möglich, durch allmählichen Zusatz von verdünnter Essigsäure aus der ca. 50—80° heissen Lösung, Cholsäure, ev. nach Beseitigung der ersten amorphen Fraktion, schon krystallisiert zu gewinnen. Salzsäure erzeugt in dem Filtrate davon keinen weiteren Niederschlag. Die Anwendung von Essigsäure ermöglicht auch ein etwa nötiges Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol, ohne dass man Gefahr läuft, an Stelle der Säure deren Ester zu erhalten, welcher sich — sofern man Salzsäure angewendet hat — durch zurückgehaltene Spuren der letzteren sehr leicht bildet. — Die so erhaltene Säure wird zuerst mit essigsäurehaltigem Wasser ausgewaschen, da sonst ein Teil der Cholsäure in zurückgehaltenem Bariumacetat sich wieder auflöst, was man am trüben Aussehen des Filtrates erkennt. — Sie bildet nach dem Auswaschen und Trocknen lockere

1) Ber. 12; 1207 ff.

Massen, die, in absoluten Alkohol gebracht, sofort auseinanderfallen und dafür einem Krystallhaufen winziger Tetraeder $[C_{24}H_{40}O_5 + C_2H_5OH]$ Platz machen. Dies Verhalten kann als Reinheitsreaktion gelten.

Die Ausbeute betrug gewöhnlich 35—40 gr aus 50 gr, theoretisch 44 gr.

Der Schmelzpunkt der also hergestellten Säure liegt etwas niedriger als der aus dem Alkohol hergestellten Säure [Fp. = 195°], wie bereits STRECKER [1]) erwähnt. — Nach LATSCHINOFF [2]) beginnt schon unterhalb die Anhydridbildung, welche zu niedriger schmelzenden Produkten führt.

Bevor ich zur eigentlichen Untersuchung der Oxydationsprodukte schritt, wurde noch zur Sicherstellung der Formel C_{24} .... eine Molekulargewichtsbestimmung nach BECKMANN ausgeführt.

Für die getrocknete Säure erweist sich zu Siedepunktsbestimmungen höchstens Eisessig als Lösungsmittel geeignet; allein der Siedepunkt war bei dem damals verwendeten älteren BECKMANN'schen Apparat so inkonstant, dass von der Benützung dieser Methode abgesehen werden musste und die Gefrierpunktsverminderung zu Hilfe genommen wurde. Lösungsmittel war wiederum Eisessig. Die benutzte Säure war aus verdünnter Essigsäure krystallisiert und vom Krystallwasser [3]) befreit worden. 0,7801 gr verloren 0,0328 gr H_2O; (= 4,20% theoretisch 4,22%). 0,3597 gr dieser Säure, in 41,4024 gr Eisessig gelöst, — eine 0,87 prozentige Lösung (G) — ergab eine Gefrierpunktserniedrigung (A) von 0,08°.

Nach der Formel $M = \frac{G.K}{\triangle}$ berechnet sich, da die Konstante (K) des Eisessigs 139 beträgt, das Molekulargewicht der Cholsäure zu $\frac{0{,}87.39}{0{,}08}$ oder 455,4.

1) Annal. 67; 1.

2) Ber. 20. 3274.

3) Cholsäure krystallisiert aus Wasser mit einer Molekel Krystallwasser.

Theoretisch wird für $C_{24}H_{40}O_5$ 408 verlangt.

In Acetaten löst sich Cholsäure, aber bedeutend schwerer als Glycocholsäure; aus heiss gesättigter Lösung scheidet sie sich beim Erkalten krystallinisch wieder aus.

Biliansäure. $(C_{19}H_{31})$. COOH COOH COOH CO CO

Tappeiner's [1]) Vorschrift zur Oxydation der Cholsäure besagt, dass am besten 2 l fassende Kolben mit 50 gr Cholsäure, 200 gr Kaliumdichromat und einer Mischung von 300 gr Schwefelsäure und 800 gr Wasser beschickt werden. — Von ungefähr 60° bei Beginn der Mischung steigt dann die Temperatur bis auf 90—100° und sinkt hierauf nach Verlauf von einer halben Stunde wieder herab. Die Cholsäure verwandelt sich dabei zuerst in eine geschmolzene, obenauf schwimmende Schicht, die später bei häufigem Schütteln wieder ziemlich körnig wird. — Während dieser Phase besonders soll sich die Cholsäure zu Cholesterinsäure oxydieren; bei verlangsamter Einwirkung in schwächeren Lösungen bilden sich mehr Fettsäuren. Soll auf die letzteren weniger Rücksicht genommen werden, so bricht man die Oxydation, sobald die Reaktion nachlässt, ab — man erwärmt also das sich abkühlende Gemisch nicht — und filtriert die noch heisse Flüssigkeit. Das Filtrat überzieht sich beim Abkühlen mit einem Häutchen, dessen krystallinische Struktur ich allerdings nie wirklich konstatieren konnte. Dasselbe war sehr geringfügig; auch brachte vorsichtiges Einengen der mit Soda abgestumpften Mutterlauge — wie es Tappeiner angiebt — wenig Zuwachs.

Indessen liessen sich aus den vereinigten Häutchen, die

1) Annal. 194; S. 212.

nach TAPPEINER die Cholesterinsäure enthalten sollen, durch mehr oder minder umständliche Operationen kleine Mengen von Krystalldrusen oder Büscheln gewinnen, die durch Auslaugen des nach TAPPEINER Fettsäuren und Cholansäure enthaltenden Rückstandes im Filter etwas vermehrt werden konnten. —

Nachdem mehrere Vorversuche mit je 4 gr Cholsäure und zwei mit je 50 gr keine erheblichen Ausbeuten geliefert hatten, wurde die Methode so lange zu variieren gesucht, bis die Ausbeute an der vermeintlichen Cholesterinsäure lohnend geworden sei. — Zu diesem Zwecke wurde die Cholsäure in Essigsäure gelöst angewendet, wodurch eine schnellere und gleichmässige Einwirkung des Oxydationsgemisches zu erwarten war. Sodann wurde die Menge des Oxydationsgemisches geändert, u. z. zuerst vermindert, da TAPPEINER mit einem Überschuss von Oxydationsmittel gearbeitet hatte. —

Schliesslich, nachdem ein Überschuss an Oxydationsmittel und Erwärmen auf lebhaft siedendem Wasserbade fast gar keine Ausbeute an Krystallen, aber viel Kohlensäure gegeben hatte, wurde nur noch bei 60°, wo keine Kohlensäurebläschen mehr auftreten, oxydiert. — Als sich dann herausstellte, dass die Krystalle Biliansäure seien, wurde, um grössere Mengen derselben zu gewinnen, nach folgender Vorschrift gearbeitet:

Zur Verwendung gelangte: aus wässriger Lösung erhaltene Cholsäure $C_{24}H_{40}O_5 + H_2O$ (Molekulargew. = 426), sowie eine Lösung, welche 10% Kaliumdichromat und die zur Reduktion desselben nötige Menge Schwefelsäure enthielt. — Eine Molekel Kaliumdichromat liefert drei Atome Sauerstoff nach folgender Gleichung $K_2Cr_2O_7$ (294) + $4H_2SO_4$ (4.98) = $K_2SO_4 + Cr_2(SO_4)_3 + 4H_2O + 3$ O.

Ein Liter obiger „Chromsäuremischung“ mit 100 gr $K_2Cr_2O_7$ und ca. 135 gr englischer Schwefelsäure (von 98%) liefert demnach ungefähr ein Atomgewicht Sauerstoff, 10 ccm ein

Hundertstel. — Cholsäure braucht, um in Biliansäure überzugehen, 6 Atome Sauerstoff: ($C_{24}H_{40}O_5 + 6O = C_{24}H_{34}O_8 + 3H_2O$).

Deshalb wurden 17 gr Cholsäure (d. h. $\frac{4}{100}$ M.—G.) in 100 gr Eisessig gelöst, dann mit 50 gr warmem Wasser verdünnt und mit 250 statt 240 cc (etwas mehr als sechs $\frac{4}{100}$ „Atomen“ Sauerstoff) der obigen Chromsäuremischung bei 60° erwärmt, bis alles Chrom reduziert war. — Es kommt dann kaum zur Ausscheidung von Dehydrocholsäure, welche intermediär entsteht und, einmal abgeschieden, sich schwer wieder löst und weiter oxydiert. — Nach einiger Zeit bemerkt man Ausscheidung von derben Krystallbündeln der mit 2 Molekeln Wasser krystallisierenden Biliansäure, die also noch bei 60° beständig ist, während sich etwas oberhalb dieser Temperatur nur anhydrische Säure, u. z. in minder gut ausgebildeten Fäden abscheidet. — Im Anfang der Arbeit suchte ich die Biliansäure durch Abkühlen und Aussalzen mit Kochsalz zu gewinnen, da aber bei diesem Verfahren ein grosser Teil der Säure wegen der Gegenwart freier Essigsäure verloren geht, so wurde es später wieder aufgegeben, ebenso wie das Auslaugen der abgeschiedenen Rohsäure mit warmer Natriumacetatlösung, welche nur Biliansäure löst, Dehydrocholsäure dagegen zurücklässt.

Die mit warmer Natriumacetatlösung erhaltenen Auszüge enthalten krystallisierbare Biliansäure. Man erhält sie daraus durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure, wobei sie zuerst als Gallerte ausfällt, um dann in wohlausgebildete prismatische Krystalle überzugehen. — Dem Rückstand der rohen Säure kann durch wiederholtes Kochen mit Natriumacetatlösung und Erkaltenlassen Dehydrocholsäure entzogen werden; indessen enthält er gewöhnlich noch etwas an Chrom gebundene, völlig unlösliche Säure. — Er wurde deshalb mit Kaliumcarbonatlösung aufgeschlossen und die Flüssigkeit vom Chrom-

hydroxyd getrennt. Beim Fällen des Filtrates erhielt ich seinerzeit ein durchaus gleichmässiges, mikrokrystallines Präparat, das ich in der Erwartung, ein neues, vielleicht zweibasisches Zwischenprodukt erhalten zu haben, nochmals aus alkalischer Lösung durch Säure, dann aus alkoholischer durch Wasser fällte und auf Schmelzpunkt, Krystallwassergehalt, Acidität und Molekulargrösse prüfte. Eine derartige Säure, die eine Molekel Krystallwasser enthalten hätte, schien allerdings vorzuliegen; aber zwei Elementaranalysen, sowie langsames Auskrystallisierenlassen der Substanz aus wässrigem Alkohol überzeugten mich, dass ich nur ein annähernd äquimolekulares Gemenge von Dehydrocholsäure und wasserhaltiger Biliansäure untersucht hatte. —

Ich erwähne diesen Misserfolg deshalb, weil er zeigt, dass eine zu flüchtige Untersuchung und einige Zufälligkeiten bei der Elementaranalyse leicht zu der Annahme einer neuen Säure geführt hätten, deren Existenz wohl nicht unwahrscheinlich, aber eben noch nicht erwiesen ist.

Die bisweilen schon während des Oxydierens ausfallende Säure, die als Zwischenprodukt aufzufassen war, schmolz, aus verdünntem Eisessig krystallisiert, bei 232°, besass also den Schmelzpunkt von HAMMARSTEN'S Dehydrocholsäure.[1])

Zwei mit der gleichen Substanz ausgeführte Molekulargewichtsbestimmungen ergaben folgende Resultate:

I. 0,1082 gr Säure in 15,56 gr Phenol gelöst, — eine 0,693prozentige Lösung G — ergab eine Gefrierpunktserniedrigung ($\triangle$) von 0,130°.

II. 0,1834 gr Säure in 20,$_{00}$ gr Phenol gelöst — eine 0,917prozentige Lösung S = ergab eine Erniedrigung von 0,165.

Nach der Formel: $M = \frac{G.K}{\triangle}$ berechnet sich, da die Kon-

1) LASSAR-COHN (Zeitschr. f. phys. Ch. 16488) giebt 236° als Fp. der Dehydrocholsäure an.

stante des Phenols 70 beträgt; das Molekulargewicht der Säure zu 373, bezw. 389. — Dehydrocholsäure verlangt 402.

Durch die Elementaranalyse wurde die Identität mit der letzteren völlig festgestellt: 0,5345 gr Säure lieferten 1,399 gr CO_2 und 0,4105 gr H_2O.

	Berechnet für $C_{24}H_{34}O_5$:	Gefunden:
C:	71,64 %	71,41 %
H:	8,45 %	8,55 %.

Dehydrocholsäure giebt ebenso wie Cholsäure beim Erwärmen mit konzentrierter Schwefelsäure eine grüne Fluorescenz.

Die spätere Isolierung und Reinigung der Biliansäure schloss sich an Mylius's[1]) Vorschrift an. — Die zunächst beim Abkühlen des Reaktionsgemisches sich abscheidende Säure konnte stets krystallisiert erhalten werden. Die Mutterlauge wurde durch Abdampfen unter Wasserzugabe möglichst von Essigsäure zu befreien gesucht. Hiedurch, sowie durch Zugabe von verdünnter Schwefelsäure kommt fast alle Biliansäure, freilich in harzig amorphem Zustande, zur Abscheidung. — Sie wird in absolutem Alkohol gelöst und mit alkoholischer Kalilauge so lange versetzt, als noch ein Niederschlag — von unlöslichen sauren Kaliumsalzen der Biliansäure — entsteht. Dabei bleibt dehydrocholsaures Kalium in Lösung. — Man wäscht den Niederschlag mit absolutem Alkohol aus, löst ihn dann in Wasser und fällt ihn mit Schwefelsäure aus. Die erhaltene Biliansäure ist für gewöhnlich nicht zur Krystallisation geneigt; sie wird in der zehnfachen Menge Alkohol gelöst und mit etwas Salzsäure mehrere Tage im Sonnenlichte stehen gelassen. Es bildet sich neben etwas neutralem Ester besonders Diäthylbiliansäure, beides krystallisierende Verbindungen, die nach dem Verseifen mit Ätzbaryt krystallisierbare Biliansäure liefern.

Wie bereits an anderer Stelle erwähnt, krystallisiert Biliansäure entweder ohne Krystallwasser oder mit zwei Molekeln. Entsprechende Alkoholate wurden nicht entdeckt. —

3,3757 gr in Prismen krystallisierte Säure verloren 0,2512 gr beim Erhitzen auf 130°; oder 7,44 % Krystallwasser.

$C_{24}H_{34}O_8 + 2H_2O$ verlangt 7,43 %.

Die getrocknete Säure ist sehr hygroscopisch. —

In Alkohol, Essigsäure, Äther, Essigester u. s. w. ist Biliansäure leicht löslich, in Ligroin fast unlöslich. Kaltes Wasser löst wenig, heisses bedeutend mehr.

100 ccm Wasser von 23° lösen: 0,0717 gr

100 ccm Wasser von 96° lösen: 0,3968 gr

Eine Lösung in absolutem Alkohol von 99,5 % bei gewöhnlicher Temperatur (23°) enthält 8,785 % wasserfreie Biliansäure ($C_{24}H_{34}O_8$).

Der Schmelzpunkt der Säure liegt, wie bereits angegeben, bei 264° (uncor.).

Biliansäure ist rechtsdrehend, wie bereits CLÈVE konstatiert hat. — Eine 0,2852 % $C_{24}H_{34}O_8$ enthaltende alkoholische Lösung von 20 cm Länge gab eine Drehung von 26,2 Minuten [Mittel aus zehn Bestimmungen]. Daraus berechnet sich das spezifische Drehungsvermögen:

$$\alpha\,[D] = +\,76.$$

CLÈVE's Mitarbeiter ANGSTRÖM[1]) hat, unter Anwendung einer konzentrierteren Lösung, auf $(C_{50}H_{70}O_{17} + HH_2O)$ berechnet, $\alpha\,[D] = 47{,}4°$ gefunden.

Molekulargewichtsbestimmungen ergaben folgendes:

I. 0,2402 gr Substanz in 19,00 gr Phenol gelöst — eine 1,264prozentige Lösung G — bewirkte eine Gefrierpunktserniedrigung von 0,212°. ($\triangle$)

II. 0,1150 gr Substanz in 17,90 gr Phenol gelöst — eine 0,638prozentige Lösung G — bewirkte eine Erniedrigung von 0,105° ($\triangle$). — Daraus berechnet sich nach der Formel $M = \frac{G \cdot K}{\triangle}$ das Molekulargewicht zu 417 bez. 424. —.

1) Bull. soc. chim. 35; 429 ff.

$C_{24}H_{34}O_8$ verlangt 448. —

Die Acidität ergab sich aus folgendem Versuch:

0,4955 gr wasserfreie Säure verbrauchten 3,35 ccm Normalnatronlauge. Dies entspricht 0,15075 gr Carboxyl = 30,4 % „COOH“.

Biliansäure enthält drei Carboxyle oder 30,1 % „COOH“, wie bereits Clève, Latschinoff und Mylius angegeben.

Biliansäure hat bei ihrem grossen Krystallisationsvermögen die Eigenschaft, Verunreinigungen mit in sich aufzunehmen, beispielsweise anorganische Ingredienzien, die auf den Schmelzpunkt oft ohne Einfluss sind, aber die Analysenbefunde sehr beeinträchtigen. Sogenannte analysenreine Säure gewinnt man am besten durch Auflösen der Säure in Essigester oder Äther, Abdampfen der filtrierten Lösung und Abdunstenlassen des in verdünntem Alkohol gelösten Rückstandes. —

Derartig gereinigte Säure wurde entwässert und gab, im offenen Rohr mit Kupferoxyd verbrannt, folgende Resultate:

I. 0,2253 gr Substanz lieferten 0,1609 gr H_2O und 0,5273 gr CO_2.

II. 0,1475 gr Substanz lieferten 0,1026 gr H_2O und 0,3446 gr CO_2.

Berechnet für $C_{24}H_{34}O_8$;		gefunden:
C_{24}:	64,00 %; —	63,83 + 63,66 %
H_{34}:	7,55 %; —	7,93 + 7,66 %

Die Hygroscopität der entwässerten Säure verhinderte besserstimmende Analysen; auch Mylius, der die Clève'sche Formel: $(C_{50}H_{70}O_{17} + 4H_2O)$ in: $(C_{24}H_{34}O_8 + 2H_2O)$ abänderte, fand keine besser stimmenden Resultate.

Obwohl von Salzen der Biliansäure bisher nur wenige hergestellt worden waren (u. z. durch Clève und Latschinoff) lag eine vergleichende Darstellung derselben ausserhalb meiner Arbeiten. — Dargestellt und analysiert wurde nur das saure Silbersalz und das zweifachsaure Kaliumsalz.

Das einfachsaure Silbersalz $C_{24}H_{32}O_8Ag_2$ wurde so dargestellt, dass eine gewisse Menge Säure in Ammoniak gelöst wurde. Die noch freies Ammoniak enthaltende Lösung blieb auf Zusatz von Silbernitrat klar; beim reichlichen Übersättigen mit Essigsäure trat eine amorphe Füllung ein, welche, auf dem Wasserbade erwärmt, zu Krystallnädelchen sich verdichtete. Nach dem Auswaschen mit zuerst essigsäurehaltigem, später reinem Wasser wurde bei 110° getrocknet.

0,2117 gr Substanz gaben, in Schiffchen verbrannt, 0,1002 gr H_2O, 0,3352 gr CO_2 und hinterliessen 0,0678 gr Silber im Schiffchen.

Berechnet für $C_{24}H_{32}O_8Ag_2$;		gefunden:
C_{24}:	43,37 %;	43,31 %
H_{32}:	4,82 %;	5,25 %
Ag_2:	32,53 %;	32,02 %
O_8:	—	—

Die Darstellung des zweifach sauren Kaliumsalzes gelang, als eine Lösung von Biliansäure in 96prozentigem Alkohol mit alkoholischer Kalilauge von demselben Alkoholgehalt unter Hinzufügung einiger Tropfen Wasser und durch Erwärmen auf dem Wasserbade — statt des anfänglichen Niederschlages von sauren Salzen — eine klare, möglichst neutrale Lösung gegeben hatte, welche, mit dem zweifachen Volum derselben alkoholischen Biliansäurelösung versetzt, nach einiger Zeit ohne vorhergegangene Trübung kleine, aber gleichmässig ausgebildete Krystalldrüsen abschied. — In verdünntem Alkohol sind sie leicht löslich; sie wurden deshalb mit starkem, später absolutem Alkohol, dann mit Äther ausgewaschen und getrocknet.

0,2143 gr Kaliumsalz wurden durch vorsichtiges Erhitzen mit Salpetersäure in salpetersaures Kalium übergeführt; die Menge desselben betrug: 0,0475 gr (KNO_3) = 0,0183 gr K oder 8,5 %. — Die Theorie verlangt 8,02 %. —

Das einfachsaure Kaliumsalz wurde in ähnlicher

Weise herzustellen gesucht; es entsteht als Trübung bei vorsichtigem Ätherzusatz, aus welcher sich Krystalldrusen äusserst langsam absondern. — Es konnte daher noch nicht analysiert werden.

Biliansäure entsteht in kleiner Menge auch, wenn man Cholsäure mit dichromsaurem Alkali in Eisessig bei Wasserbadwärme oxydiert, wobei als Hauptprodukt fette Säuren auftreten.

Biliansäure giebt, mit Schwefelsäure erwärmt, eine grünliche Fluorescenz. —

Gegen Oxydationsmittel ist Biliansäure ziemlich beständig. — Nach Clève soll durch konzentrierte Salpetersäure Cholesterinsäure Redtenbacher's entstehen. „Chromsäuremischung" wirkt nur ganz konzentriert beim Kochen ein. — Wasserstoffsuperoxyd blieb ohne Einwirkung, desgleichen Ferricyankalium und alkalische Bromlösung. —

Empfindlicher ist Biliansäure gegen Kaliumpermanganat in saurer, wie neutraler oder alkalischer Lösung. Man kann davon die zwanzig, ja fünfundzwanzig Atomen Sauerstoff entsprechende Menge auf eine Molekel Biliansäure anwenden, ohne sie dadurch gänzlich zu oxydieren. —

Entsprechend fällt die v. Baeyer'sche[1]) Probe auf ungesättigte Säuren mit kalter Permanganatlösung aus: Dieselbe wird erst nach einiger Zeit reduziert.

Kalilauge bleibt bei Temperaturen bis zu 200° ohne bemerkenswerte Einwirkung; nur wird die Krystallisationsfähigkeit der Biliansäure zerstört. —

Cholansäure. ($C_{24}H_{36}O_7$.)

Bei der Darstellung von Biliansäure aus minder reinem Material wurden noch kleine Mengen Cholansäure gewonnen. Wie schon früher erwähnt, entsteht sie aus Cholcinsäure $C_{24}H_{40}O_4$):

1) Ann. 245.

$$C_{24}H_{40}O_4 + 5O = C_{24}H_{36}O_7 + 2H_2O.$$

Sie erhält sich zur Biliansäure, wie die Choleinsäure zur Cholsäure. Sie ist ebenfalls viel schwerer in Wasser und verdünnnter Essigsäure löslich als Biliansäure. Dies Verhalten führte zur Auffindung und Trennung. Beim Umkrystallisieren der mit Schwefelsäure aus alkoholischer Lösung gefällten Biliansäure aus verdünnter heisser Essigsäure hinterblieb ein feiner Schlamm, der erst durch Kochen mit hochprozentiger Essigsäure in Lösung gebracht wurde und beim Erkalten sich vollkommen krystallinisch wieder abschied. Auch durch Verdünnen der Mutterlauge mit Wasser liessen sich dieselben Krystalle gewinnen. Sie unterscheiden sich von denen der Biliansäure, selbst unter dem Mikroskop, ziemlich deutlich. Es sind vierseitige, im Durchschnitt quadratische Prismen, welche oben und unten durch je eine schiefe Fläche begrenzt sind. In grösseren, zu krystallographischen Messungen geeigneten Krystallen liess sich die Säure bisher noch nicht gewinnen; doch dürfte eine Mischung von Essigsäure und Essigester am geeignetsten hierzu sein.

Cholansäure krystallisiert ohne Krystallwasser, schliesst aber gern Lösungsmittel beim Krystallisieren mit ein.

Sie schmilzt nach meinen Beobachtungen bei 286° (uncor.), was mit LATSCHINOFF's Angabe[1]) 285° ziemlich übereinstimmt.

In Wasser ist Cholansäure sehr schwer löslich, besonders bei völliger Abwesenheit von Alkalisalzen; auch heisses Wasser löst nur wenig Cholansäure.

100 ccm Wasser lösen bei 23° 0,0043 gr

100 ccm Wasser lösen bei 97° 0,0930 gr

100 ccm einer Lösung der Säure in 99,5prozentigem Alkohol enthalten 4,624 gr bei 23°.

---

1) Ber. 15; 713 ff.

Das optische Drehungsvermögen der Säure wurde an einer 0,2832 Prozent enthaltenden alkoholischen Lösung bestimmt. Eine Flüssigkeitssäule von 20 cm Länge ergab eine Rechtsdrehung von 38,4 Minuten. Daraus berechnen sich α [D] = + 113°.

Tappeiner [1]) und Latschinoff [2]) fanden mit konzentrierteren Lösungen kleinere Werte.

Molekulargewichtsbestimmungen mit Hilfe von erstarrendem Phenol führten zu folgenden Resultaten:

I. 0,4350 gr Säure in 20,40 gr Phenol gelöst, — eine 2,088prozentige Lösung — ergaben eine Gefrierpunktserniedrigung von 0,340°.

II. 0,2327 gr Säure in 15,81 gr Phenol gelöst — eine 1,454prozentige Lösung — ergaben eine Erniedrigung von 0,240°. Die Konstante des Phenols ist 70; daher betragen die gefundenen Werte 430, bezw. 426.

$(C_{24}H_{36}O_7)$ verlangt: 436.

Ein schnelleres und sicheres Arbeiten wurde bei diesen und einigen früheren Bestimmungen dadurch erreicht, dass die Säure aus dem vorher gewogenen Wägeröhrchen möglichst heiss in das Phenol geschüttet wurde.

Zwei Elementaranalysen ergaben folgende Resultate:

I. 0,1243 g Säure entwickelten, im Schiffchen verbrannt, 8,37% H_2O und 65,80% CO_2 [0,0937 g H_2O + 0,2999 g CO_2].

II. 0,1129 g Säure gaben 8,55% H_2O und 65,84% CO_2 [0,0870 g H_2O und 0,2726 g CO_2].

Berechnet für $C_{24}H_{36}O_7$:	Bestimmt:
C_{24}: 66,05%;	65,80.—65,84.
H_{36}: 8,25%;	8,37.— 8,55.
O_7:	

Die ausgeführten Molekulargewichtsbestimmungen und Ele-

1) Annal. 194; 233.

2) Ber. 15; 713 ff.

mentaranalysen ergaben die Richtigkeit der CLÈVE'schen [1]) Formel $C_{24}H_{36}O_7$ gegenüber der TAPPEINER'schen[2]) $C_{20}H_{28}O_6$. — Nachdem CLÈVE [3]) und LATSCHINOFF [4]) bereits die gebräuchlicheren Salze dargestellt hatten, konnte ich mich mit der Frage der Natur des siebenten Sauerstoffatomes, ob es hydroxylartig oder ketonartig gebunden sei, beschäftigen. —

„Chromsäuremischung", selbst konzentrierte, bleibt bei stundenlangem Erhitzen auf dem Wasserbade ohne Einwirkung; Cholansäure lässt sich also nicht — wie bereits früher erwähnt — in Biliansäure überführen. —

Cholansäure kann demnach keine primäre oder sekundäre Alkoholgruppe enthalten, höchstens eine tertiäre; es wäre in diesem Falle ein Acetylderivat zu erwarten gewesen. —

0,75 gr Säure wurden mit soviel Essigsäure anhydrid, als zur Lösung erforderlich war, erst bei gelinder, später, als keine Veränderung wahrzunehmen war, bei Wasserbadtemperatur stehen gelassen. Ein Acetylierungsprodukt, überhaupt eine Veränderung der Cholansäure liess sich nicht entdecken.

Es wurden nun Ketonreaktionen mit Hydroxylamin und Phenylhydrazin versucht.

Die Einwirkung von salzsaurem Hydroxylamin auf in Natronlauge oder Natriumkarbonat gelöste Säure blieb bei gewöhnlicher Temperatur, bei Wasserbadwärme, bez. bei 140° ohne Erfolg. — Auf weitere Modifikationen der Methode konnte ich mich bei dem geringen Vorrat an Cholansäure nicht einlassen.

Phenylhydrazin wirkt auf Cholansäure in Eisessiglösung fast gar nicht rein. Verdünnt man aber die fast bis zur Sättigung eingedampfte Eisessiglösung mit Wasser und kocht unter Ersatz der verdampfenden Flüssigkeit durch Wasser

---

1) Bull. soc. chim. Bd. 35; 423 ff.

2) Ber. 19; 474.

3) Bull. soc. chim. 35; 423 ff.

weiter, so erhält man schliesslich zwar die Hauptmenge der Cholansäure krystallinisch wieder zurück, wenn man abkühlen lässt. Aber in der Flüssigkeit bleibt ein schwach gelblich gefärbtes Produkt zurück, das sich beim Verdünnen mit Wasser als solches ausscheidet. Es krystallisiert in zu Drusen vereinigten Blättchen, welche wahrscheinlich das Phenylhydrazon der Cholansäure darstellen.

Die Substanz erwies sich beim Schmelzen mit metallischem Natrium als stickstoffhaltig; sie zersetzt sich beim Erhitzen auf ungefähr 270°—280° und schmilzt dann bei 290°. — Zur Ausführung einer Elementaranalyse war die dargestellte Menge des Körpers zu klein. Da die Einwirkung von Phenylhydrazin auf das hypothetische Ketonsauerstoffatom durch eine lactonbildende Tendenz einer COOH = Gruppe beeinträchtigt schien, wurde der Ester zur Reaktion herangezogen. —

Dieser lässt sich nach LATSCHINOFF[1]) leicht aus dem Silbersalz gewinnen. Das Silbersalz erhielt ich durch Versetzen einer neutralen Lösung von Cholansäure in Ammoniak mit Silbernitrat und Versetzen und Auswaschen mit Alkohol. — Das erhaltene Silbersalz wird mit einem Überschuss von Jodäthyl, verdünnt mit der ca. zehnfachen Menge Benzol, längere Zeit digeriert. LATSCHINOFF verwandte an Stelle des Benzols Alkohol, erhielt aber dann zugleich Estersäure, welche bei dem abgeänderten Verfahren, sofern das Silbersalz gut getrocknet angewendet wird, nicht mit auftritt. — Wenn das Silbersalz völlig in Jodsilber übergegangen ist, wird filtriert und die Esterlösung wiederholt mit Alkohol abgedampft, um das Benzol zu verjagen. Darnach wird die nunmehr alkoholische Lösung in Wasser gegossen, aus welchem sich der Ester in feinen Nadeln abscheidet. Er wurde nochmals umkrystallisiert und schmolz dann, wie LATSCHINOFF angiebt, bei 75°.

1) Ber. 19; 474 ff.

Das Phenylhydrazon des Äthylesters erhielt ich, als ich beide Körper in berechneten Mengen mit Eisessig auf dem Wasserbade mehrere Male eindampfen liess. — Es hinterblieb endlich nach der Reinigung mit einer Mischung von Äther und Petroläther, welche freies Phenylhydrazin nicht löst, das Hydrazon als strahligkrystallinische Masse, welche getrocknet und auf den Stickstoffgehalt untersucht wurde.

0,1169 gr Substanz lieferten, nach Dumas verbrannt, bei 23° und 734 mm 4,5 ccm N,

Berechnet für $C_{24}H_{33}(C_2H_5)_3O_6N_2HC_6H_5$; gefunden.

4,59% 4,28%.

Auf Grund der Analyse ist also die Annahme gestattet, dass Cholansäure eine Ketonsäure sei.

Cholansäure giebt ebenso wie die vorher genannten Säuren mit konzentrierter Schwefelsäure eine grüne Fluorescenz. —

Was das Verhalten der Cholansäure gegen Kaliumpermanganat betrifft, so scheint sie, wie folgender Versuch ergiebt, gegen dieses Reagens noch widerstandsfähiger als Biliansäure zu sein. — Es wurden nämlich 0,43 gr Säure $\frac{1}{100}$ M. G. mit etwas Soda in Lösung gebracht und mit 2,1 gr $KMnO_4$ in verdünnter Lösung bei Wasserbadwärme (95°) zu oxydieren gesucht; die Aufzehrung des Sauerstoffes nahm einige Stunden in Anspruch; indessen gaben die Filtrate, vereinigt und konzentriert, mit verdünnter Schwefelsäure einen immerhin noch beachtenswerten Niederschlag von unveränderter Cholansäure. Die davon getrennte Flüssigkeit wurde mit Essigester ausgeschüttelt und, da Oxalsäure im Auszuge nachweisbar war, die Essigester-Lösung mit Chlorcalcium getrocknet, welches die Oxalsäure bindet. — Nun wurde der grösste Teil des Essigesters abdestilliert, der Rückstand mit verdünnter Essigsäure aufgenommen und langsam abdunsten gelassen. —

Es hinterblieb ein unter dem Mikroskop heterogenes Ge-

misch verschiedener, teilweise deutlich krystallinischer Säuren, welches anscheinend die sehr hygroscopische Cholesterinsäure nicht enthält. — Es wurde behufs Entfernung etwa gebildeter Fettsäuren zunächst mit Petroläther maceriert und nach Beseitigung desselben wiederum in verdünnter Essigsäure gelöst, in der Hoffnung, beim Verdunsten der Lösung deutlich ausgebildete Krystalle zu erhalten. Indessen schieden sich dabei wieder nur undeutlich krystallinische Kügelchen einer harzartigen Säure aus, so dass die Frage, ob sich beim Oxydieren die von REDTENBACHER entdeckte Choloidansäure $C_{16}H_{24}O_7$ gebildet habe, nicht entschieden werden konnte. —

Übrigens zeigte auch dieses Produkt beim Erwärmen mit konzentrierter Schwefelsäure die bekannte Fluorescenz.

Oxydationsversuche, angestellt mit der Biliansäure.

Es war nicht unwahrscheinlich, dass man durch geeignete Oxydationsmittel aus der grossen Biliansäuremolekel C_{24} .... verschiedene Zwischenstufen bis zur Cholesterinsäure hinab erhalten würde. — Gleichzeitig war die Hoffnung noch nicht aufgegeben, auf TAPPEINER's krystallisierte Cholesterinsäure zu stossen. — Nachdem sich gezeigt hatte, dass Biliansäure, einmal gebildet, sich gegen weitere Einwirkung von Kaliumdichromat und Schwefelsäure selbst beim Kochen ziemlich widerstandsfähig verhält, machte ich den Versuch, sie mit Kaliumpermanganatlösung bei Gegenwart von Schwefelsäure zu oxydieren.

Zwischenglieder zwischen Biliansäure und Cholesterinsäure liessen sich dabei aber nicht erhalten. — Bei 80° werden ungefähr 25 Atome Sauerstoff verschluckt, wobei demnach kleine Mengen Biliansäure unverändert bleiben. —

Da in schwach schwefelsaurer Lösung Kaliumpermanganat nach folgender Gleichung reagiert:

$$2\ KMnO_4\ (316) + H_2SO_4\ (98) + H_2O = K_2SO_4 +$$

$2\ MnO_3H_2 + 3\ O$; so enthält eine Lösung von 26,5 gr Kaliumpermanganat und 9 gr englischer Schwefelsäure auf 500 ccm Wasser annähernd $\frac{25}{100}$ „Atome“ Sauerstoff zur Oxydation bereit; 20 ccm demnach $\frac{1}{100}$ „Atome“.

4,85 gr Biliansäure $\left\{\frac{1}{100}\right.$ M.G.) wurden mittelst etwas Soda in 200 ccm Wasser gelöst und mit Oxydationsflüssigkeiten von obigem Gehalt behandelt. — Bei 70—80° sind ungefähr 25 Atome Sauerstoff zur Oxydation anscheinend ausreichend, bei 100° aber werden über 35 Atome sehr leicht verschluckt. — Es würde, da bei 100° ein Zerfall der ganzen Molekel zu befürchten war, nur bei 70—80° oxydiert. — Die vom Manganschlamm getrennte Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade eingedampft, nachher kalt mit einer erkalteten Mischung von Schwefelsäure und Wasser (1+2 vol.) reichlich versetzt und kühl gestellt. Es scheidet sich dann ein Teil noch unveränderter Biliansäure aus, ein anderer Teil derselben bleibt aber in Lösung und kann erst später getrennt werden. —

Die von abgeschiedener Bilansäure getrennte Lösung wird nun mit Essigester, welcher viel besser als Äther die in Wasser leicht lösliche Cholesterinsäure aufnimmt, ausgeschüttelt. — Das leichtere Übergehen in den Essigester wird durch den oben erwähnten Zusatz von viel Schwefelsäure begünstigt, Sättigung mit Salz leistet bei der energischen Acidität der Cholesterinsäure, keine Dienste. — Aus den mit Chlorcalcium getrockneten Esterauszügen erhält man eine stark sauere, in Wasser nicht klar lösliche, syrupartige Masse, die man durch wiederholtes Auflösen in Wasser möglichst von Fettsäuren, deren Bildung teilweise durch parallele Oxydation bedingt ist, zu befreien sucht. —

Für die weitere Reinigung ist Ausschütteln der in Wasser

gelösten Masse mit Petroläther, später mit einem Gemisch von Äther und Petroläther zu empfehlen; niedere Fettsäuren, sowie Biliansäure werden dadurch entfernt. Es darf dann beim Lösen und Erwärmen mit konzentrierter Schwefelsäure keine gelbgrüne Fluorescenz mehr auftreten. Cholesterinsäure giebt erst bei höherem Erhitzen eine schwach bläulich-grüne Fluorescenz. Bei nicht genügend von Biliansäure befreiter Säure scheidet sich diese erstere während längeren Stehens und Abdunstens der wässerigen Lösung in ihren charakteristischen Krystallen ab, — was mich anfangs zu der irrtümlichen Meinung verführte, dass ich die längst gesuchte Tappeiner'sche krystallinische Cholesterinsäure vor mir hätte, die sich in ähnlicher Weise[1]) . . . „in sehr schönen, bis zu einem cm langen Prismen ohne Krystallwasser . . . bei längerem Stehenlassen ihrer verdünnten, mit etwas Äther versetzten Lösung" . . . ausscheiden soll. Indessen der sandige Geschmack und die Form der Krystalle lehrten mich bald, dass es nur unveränderte Biliansäure war. Die Mutterlauge enthält Cholesterinsäure, lässt sich aber zur Isolierung derselben durch Eindampfen noch nicht verwenden.

Zum Zwecke der Reinigung und Analyse schien das Kupfersalz geeignet zu sein.

Eine neutrale oder schwach alkalische Lösung der Säure in Sodalösung wurde portionsweise mit Kupfersulfatlösung versetzt und darnach jedesmal zum Sieden erhitzt. Von dem entstandenen Niederschlage wurde jedesmal heiss abfiltriert, und, sobald der Kupferniederschlag reine, gleichmässige, bläuliche Farbe angenommen hatte, die Flüssigkeit, soweit möglich, mit Kupfersulfat ausgefällt.

Der so erhaltene Niederschlag ist cholesterinsaures Kupfer; doch hat dieses die Eigenschaft, sich durch Waschen

1) Ann. 194. 218.

mit Wasser, das ja zur Reinigung unbedingt nötig ist, teilweise zu zerlegen.

Unter anderen erhielt ich beim Analysieren des Kupfersalzes folgende Werte:

1) 0,3326 gr Substanz [bei 110° getrocknet] gaben beim Glühen im Tiegel unter Luftzutritt: 0,1340 gr CuO = 0,1070 gr Cu = 32,17 %.
2) 0,2210 gr Substanz gaben geglüht: 0,0918 gr CuO, = 0,07345 gr Cu = 33,23 %.
3) 0,0895 gr Substanz gaben geglüht: 0,0315 gr CuO = 0,02512 gr Cu = 28,11 %.

Unter Annahme der TAPPEINER'schen Formel für die Cholesterinsäure: $C_{12}H_{16}O_7$ — würde neutrales cholesterinsaures Kupfer 25,93 % Cu verlangen.

Aus dem Kupfersalz wurde durch Einwirkung von H_2S die Säure freigemacht. Alle Versuche, dieselbe aus verschiedenen Lösungsmitteln zu krystallisieren, schlugen fehl. Ebensowenig gelang es, aus einzelnen Fraktionen der dargestellten Silber-, Blei-, Barium- und Calciumsalze eine krystallisierbare Säure zu gewinnen.

Da nach TAPPEINER die Krystallisationsfähigkeit der Cholesterinsäure durch kleine Beimengungen von Brenzcholesterinsäure aufgehoben werden soll, und die Schwefelsäure beim Oxydieren die Bildung der letzteren veranlasst haben konnte, so wurde nunmehr ohne Schwefelsäure mit 30 Atomen Sauerstoff unter sonst gleichen Bedingungen oxydiert. Die Oxydation verläuft hierbei viel gleichmässiger; höhere Fettsäuren, die beim früheren Verfahren auftraten, werden nicht gebildet; dagegen enthält die Flüssigkeit viel Carbonat. Nachdem die Kohlensäure durch verdünnte Schwefelsäure freigemacht worden ist, wird wieder viel Schwefelsäure (1 vol. + 2 vol. H_2O) zugegeben, kühl gestellt, filtriert und das Filtrat ausgeschüttelt. Man trocknet mit entwässertem Glaubersalz,

da der Ester Oxalsäure mit enthält, die beim Oxydieren in alkalischer Lösung sich bildet, und destilliert den Essigester ab.

Ehe man nun die Oxalsäure beseitigt, entfernt man flüchtige niedere Fettsäuren, die ebenfalls beim Oxydieren mitgebildet worden sind, durch Wasserdampfdestillation. Zwar nimmt man die letztere sonst stets vor dem Ausschütteln vor; doch entschied ich mich aus Gründen der Vorsicht diesmal für das Umgekehrte.

Nachdem man alle flüchtigen Säuren beseitigt hat, dampft man den Destillationsrückstand ein, löst ihn in absolutem Alkohol und setzt so lange Ammoniak tropfenweise zu, als man krystallinische Fällungen erhält. Dieselben sind oxalsaures Ammonium. Würde man jetzt Ammoniak weiter zufügen, so bekäme man nach genügendem Zusatz wiederum Fällungen, aber amorphen Charakters, welche unreines cholesterinsaures Ammonium sind, dessen Weiterbehandlung aber nicht lohnt. Aus der Menge des Ammonoxalates scheint hervorzugehen, dass nicht mehr als eine Molekel Oxalsäure bei der Oxydation entsteht. Der Versuch, die Oxalsäure in dem vom Manganschlamm getrennten Reaktionsprodukt nach dem Ansäuern mit Essigsäure durch Calciumacetat auszufällen und zu bestimmen, gelang nicht. Kaum der dritte Teil einer Molekel Oxalsäure — falls bei der Oxydation sich eben nur eine Molekel Oxalsäure bildet — wurde nachgewiesen. Nach Fresenius[1]) verhindern Phosphate und Citrate — und, wir können wohl hinzufügen, die Salze anderer dreibasischen organischen Säuren — die völlige Ausfällung der Oxalsäure. In diesem Falle dürfte Cholesterinsäure die Fällung verhindert haben.

Die vom Calciumoxalat befreite Flüssigkeit wird mit Wasser verdünnt, vom Alkohol durch Verjagen befreit, darnach durch Sodazusatz schwach alkoholisch gemacht und nun

1) Fresenius, Lehrbuch der quantitativen Analyse.

wie oben angegeben, zur Bereitung des Kupfersalzes und Silbersalzes weiter behandelt.

Auch bei diesem abgeänderten Oxydationsverfahren konnte keine krystallisierbare Säure gewonnen werden. Es hinterblieb nach dem Abdunsten ihrer wässerigen Lösung ein Syrup, der bisher nie Neigung zum Krystallisieren zeigte. Nach tagelangem Verweilen im Vacuum über Schwefelsäure trocknete sie zu einer zerreiblichen Masse ein, die auch zur Elementaranalyse verwandt wurde.

1) 0,1212 gr lieferten, im offenen Rohr verbrannt, 0,0702 gr H_2O und 0,2377 gr CO_2.
2) 0,1190 gr lieferten 0,0692 gr H_2O und 0,2325 gr CO_2.

Berechnet für Cholesterinsäure:

C_{12}: 52,94 %; — gefunden: 53,46; 53,3 %.
H_{16}: 5,88 %; — 6,43 %; 6,37 %.
O_7: — —

Wenn sich auch aus den mitgeteilten Analysen die wirkliche Molekulargrösse nicht ergeben konnte, da z. B. die ältere Cholesterinsäureformel $C_8H_{10}O_5$ ähnliche Werte wie $C_{12}H_{16}O_7$ verlangt, so glaube ich doch die letztere, von TAPPEINER aufgestellte Formel als die wahrscheinlichere annehmen zu müssen. In Betracht zu ziehen wäre ferner noch die Formel $C_{12}H_{14}O_7$.

Ich behalte mir vor, nachdem ich endlich einen bequemen Weg zur Darstellung der Cholesterinsäure gefunden zu haben glaube, beide Punkte später zu erledigen.

Eine kleine Modifikation des Darstellungsverfahrens sei noch mitgeteilt: Da nach CLÈVE (siehe Seite 9) Cholsäure schon bei gewöhnlicher Temperatur unter der Einwirkung von $KMnO_4$ in Biliansäure übergeht, so kann man bei der Darstellung der Cholesterinsäure direkt von der Cholsäure oder der Glycocholsäure ausgehen. Das Glycocholl der letzteren wird hierbei zu Kohlensäure unter gleichzeitiger Bildung von Ammoniak verbrannt, wie mich diesbezügliche Versuche belehrten.

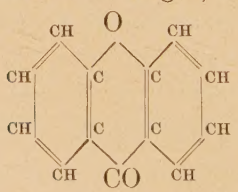
Durch Oxydation mittelst Dichromsaurem Alkali in eisessigsaurer Lösung entsteht aus der Cholsäure keine Cholesterinsäure oder vielleicht nur Spuren davon. In der Hauptsache entstehen — wenn man ungefähr 20 Atome Sauerstoff zur Anwendung bringt — fette Säuren, mit deren Zerlegung ich mich nicht eingehender beschäftigt habe, und etwas Biliansäure. —

Schlussbemerkungen.

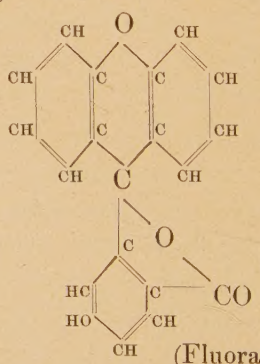
Die Frage, ob in der Cholsäuremolekel ringförmige Verkettungen oder nur einige doppelte Bindungen vorhanden sind, ist nach dem Verhalten der Biliansäure und Cholansäure gegenüber Kaliumpermanganat zu Gunsten der ersteren Annahme zu entscheiden. —

Eine weitere Begründung ihres „aromatischen" Charakters — für den auch, wie wir gesehen haben, ihre Verkuppelung mit Glycocholl spricht — liegt in dem Verhalten der Cholsäure selbst und ihrer Abkömmlinge gegenüber konzentrierter Schwefelsäure, welche damit fluoreszierende Lösungen giebt. —

Es existieren nun zwei gut charakterisierte Verbindungen Xanthon $C_{13}H_8O_2$ und Fluoran $C_{20}H_{12}O_3$; welche, wie ihre Strukturformeln zeigen, aromatisch gebaut sind.

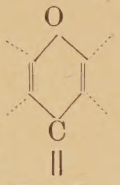


(Xanthon).



(Fluoran).

Dieselben fluoreszieren ebenfalls in konzentriert-schwefelsaurer Lösung. — Zwar ist anzunehmen, dass die Schwefelsäure auch auf die Cholsäuremolekel ringbildend einwirkt, aber nur in Bezug auf das Zustandekommen der mittleren Verkettung:



des Xanthonringsystems. — Durch wasserentziehende Mittel entsteht ja auch Xanthon aus Salicylsäurederivaten. [1])

Von den beiden anderen Ringen, an deren Bildung allerdings zwei Cholsäuremolekeln teilnehmen können, dürfen wir als wahrscheinlich annehmen, dass sie schon vorgebildet sind.

Was die Cholesterinsäure anbelangt, so habe ich mich hinsichtlich ihrer Krystallisationsfähigkeit nicht von der Richtigkeit der TAPPEINER'schen Resultate überzeugen können. — Cholesterinsäure ist jedenfalls, da sie aus einer Ketonsäure, der Biliansäure, entsteht und eine ungerade Anzahl von Sauerstoffatomen in ihrer Molekel enthält, eine Ketonsäure. — Von den Ketonsäuren, namentlich den γ-Ketonsäuren, ist es bekannt, dass sie sich lactonartig verhalten können und also auch wie die eigentlichen Lactone schwer zur Krystallisation zu bringen sind. — Aus dieser Erwägung blieb die Mutmassung, dass TAPPEINER die Reaktionen von beigemengter Biliansäure für solche der vermeintlich krystallinischen Cholesterinsäure gehalten habe, bestehen. —

1) KOLBE, Annal. **115**. 197. GRÄBE, Ber. **21**. 501. PERKIN, Ber. 16. 339 u. a.